

Bakteriyemi Hızlı Tanısı İçin Yöntemler

Prof. Dr. Füsun Can

Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Sepsis

Surviving Sepsis Campaign (SSC) 2002:

7 önemli Nokta

- 1.Sepsis farkındalığının artırılması
- 2.Tanı yöntemlerinde iyileştirme
- 3.Uygun tedavi ve bakım uygulamaları
- 4.Yoğun bakım sonrası hasta bakımının iyileştirilmesi
- 5.Sağlık personelinin eğitimi
- 6.Bakım ile ilgili kılavuzların geliştirilmesi
- 7.Performans iyileştirme program uygulaması

İhtiyaçlar&Beklentiler

- **Klinik yanıtın iyileştirilmesi**
 - Etkin tedavi için zamanlama
 - İlaç ile ilişkili yan etkilerin azaltılması
 - Beklenmeyen etkilerin azaltılması
- **Antibiyotiklerin uygun kullanımı**
 - Doğru ilaç, doz ve zamanlama
 - De-escalation
- **Antibiyotik direncinin azaltılması**

2012 SSC Guidelines



Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2012

R. Phillip Dellinger, MD¹; Mitchell M. Levy, MD²; Andrew Rhodes, MB BS³; Djillali Annane, MD⁴; Herwig Gerlach, MD, PhD⁵; Steven M. Opal, MD⁶; Jonathan E. Sevransky, MD⁷; Charles L. Sprung, MD⁸; Ivor S. Douglas, MD⁹; Roman Jaeschke, MD¹⁰; Tiffany M. Osborn, MD, MPH¹¹; Mark E. Nunnally, MD¹²; Sean R. Townsend, MD¹³; Konrad Reinhart, MD¹⁴; Ruth M. Kleinpell, PhD, RN-CS¹⁵; Derek C. Angus, MD, MPH¹⁶; Clifford S. Deutschman, MD, MS¹⁷; Flavia R. Machado, MD, PhD¹⁸; Gordon D. Rubenfeld, MD¹⁹; Steven A. Webb, MB BS, PhD²⁰; Richard J. Beale, MB BS²¹; Jean-Louis Vincent, MD, PhD²²; Rui Moreno, MD, PhD²³; and the Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including the Pediatric Subgroup*

Dellinger, RP Critical Care Medicine. 41(2):580-637, February 2013.

SSC Bundle Uygulamaları NeKadar Başarılı

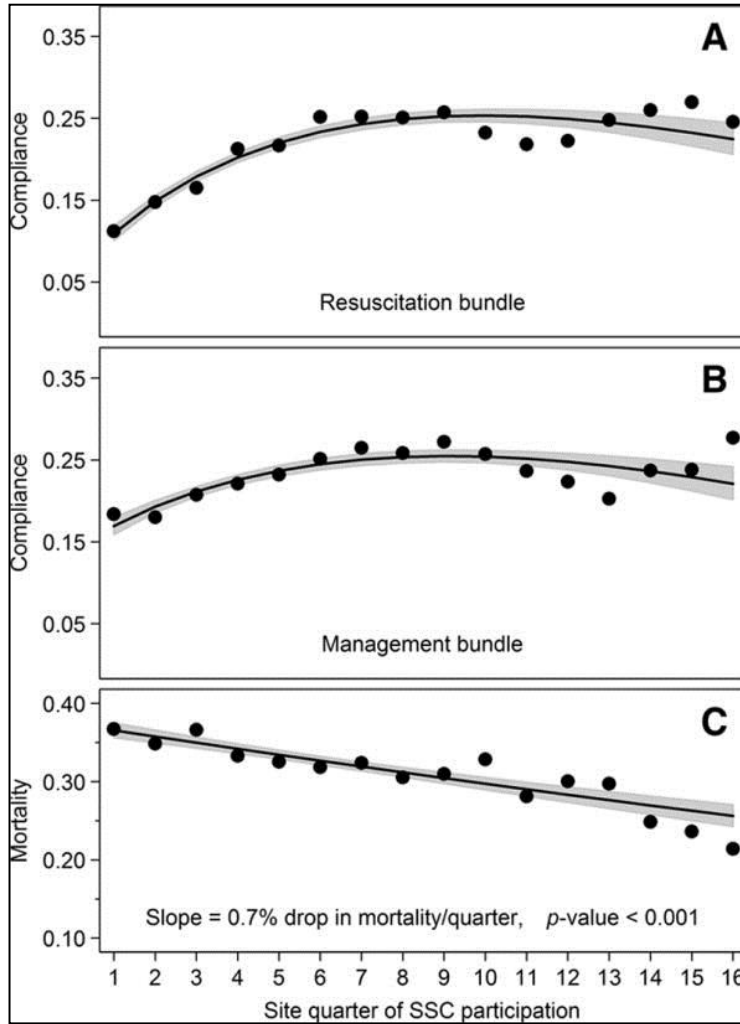


Figure 1 . Resuscitation (A) and management (B) Surviving Sepsis Campaign (SSC) bundle compliance and hospital mortality (C). All panels are based on an unadjusted generalized estimating equation population-averaged logistic regression model where circles represent observed values, lines are based on the regression, and shaded areas are the 95% CIs.

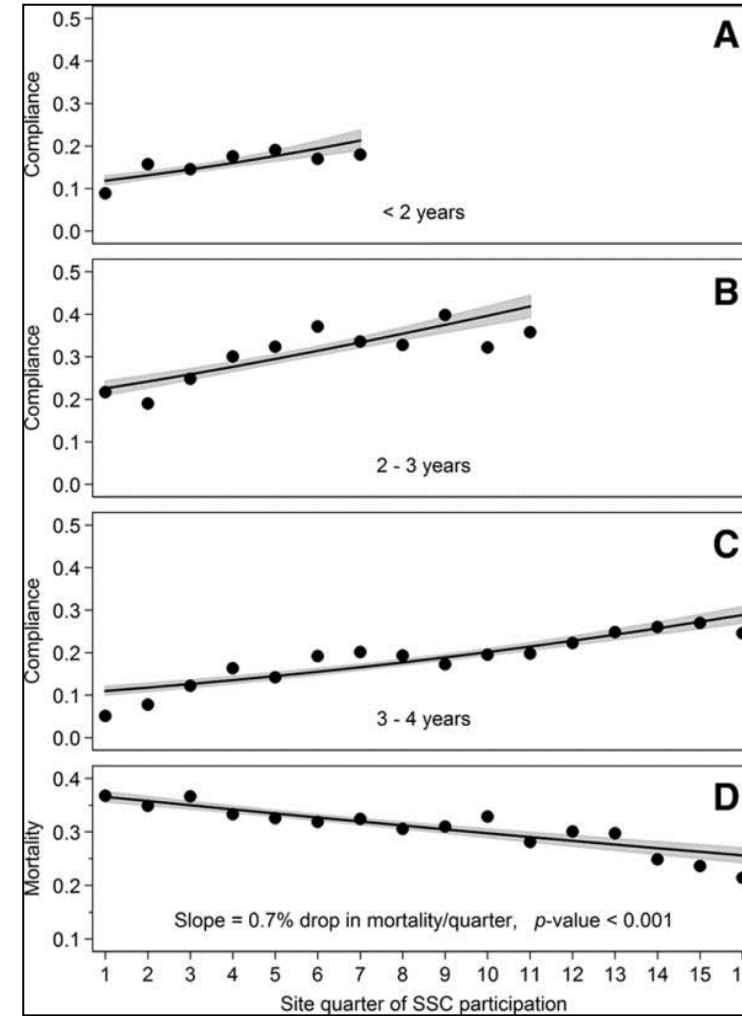


Figure 2 . Resuscitation compliance by duration of years of Surviving Sepsis Campaign (SSC) participation (A; 2 to B; 3-4 years, C) and hospital mortality (panel D). All panels are based on an unadjusted generalized estimating equation population-averaged logistic regression model where circles represent observed values, lines are based on the regression, and shaded areas are the 95% CIs.

Levy, Mitchell ve ark. Critical Care Medicine. 43(1):3-12, January 2015.

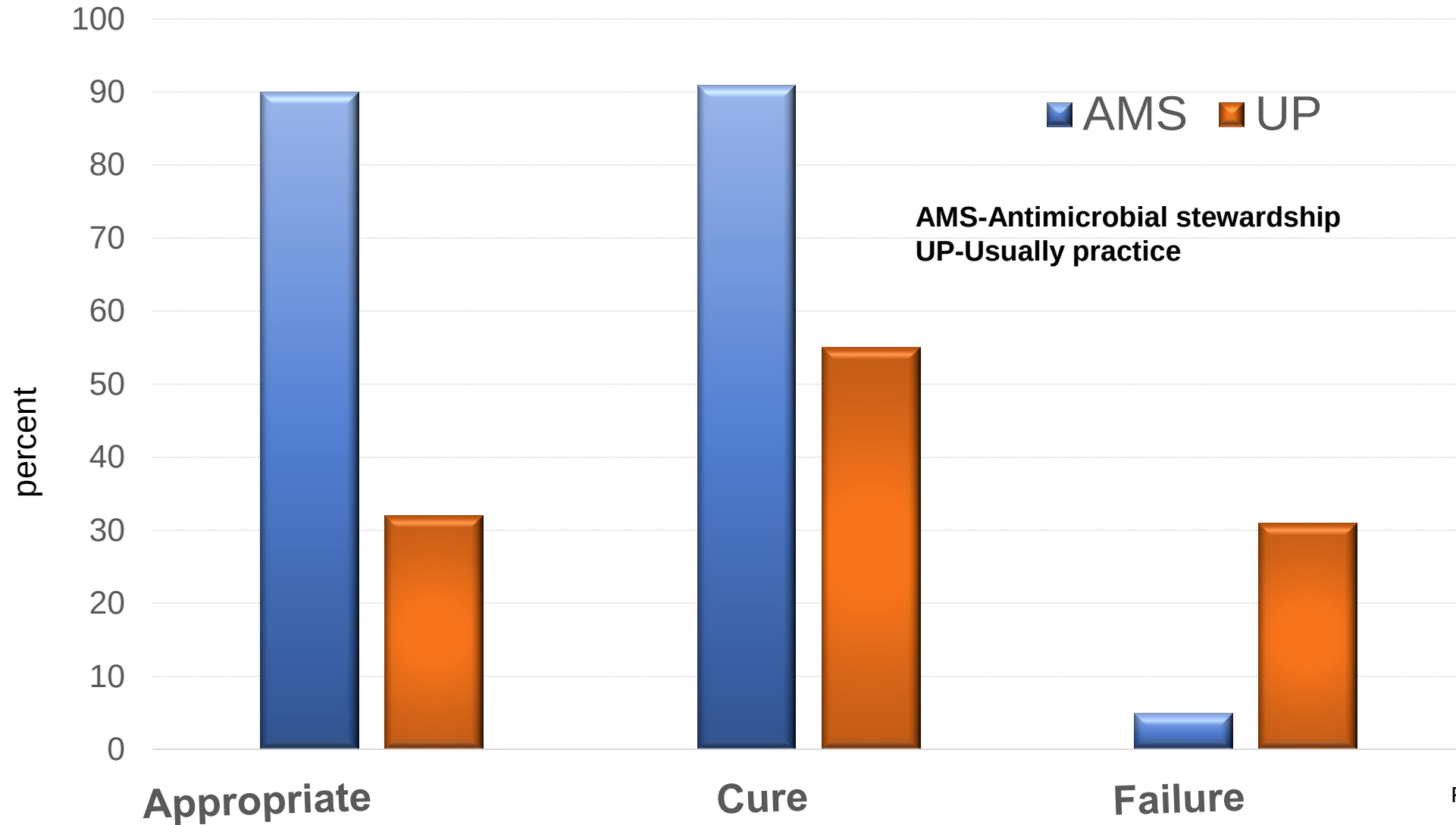
Problemler

- Semptomlar etkene özgün değil
- Patogeneze ile ilgili bilinmeyenler var
- Duyarlılık profili tahmin edilemiyor
- Etkene yönelik tedavi başlanması 2-7 gün
- Geniş spektrumlu antibiyotikler kullanılıyor
- Direnç problemi artıyor

Birinci Basamakta İhtiyaçlar

- Baktreyemi riskini gösteren parametre yok
- Hangi hastanın kliniğe sevk edilmesi gerektiğini gösteren parametre yok
- Hızlı, ucuz, duyarlılığı yüksek, hasta başı biyobelirteç testi yok

Antimikrobiyal Yönetim Uygulamalarında Etkene Yönelik Tedavi



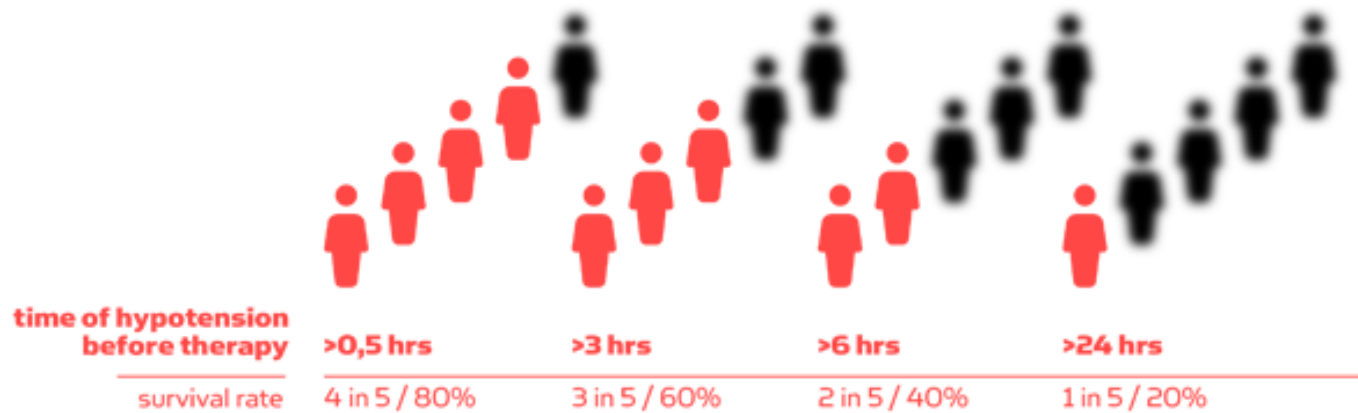
Fishman N. Am J Med, 2006

Antimikrobiyal Yönetimde Önemli Strateji

- **Etkin antimikrobiyal tedaviye başlama zamanı**
 - Uygun ampirik tedavi
 - Hızlı etkene yönelik tedavi
 - **Dakikalar önemli!!!!**
- Antimikrobiyal direnç artıkça önemi artıyor

Mikrobiyoloji laboratuvarı önemli destek

Detecting sepsis early
increases chances for
survival

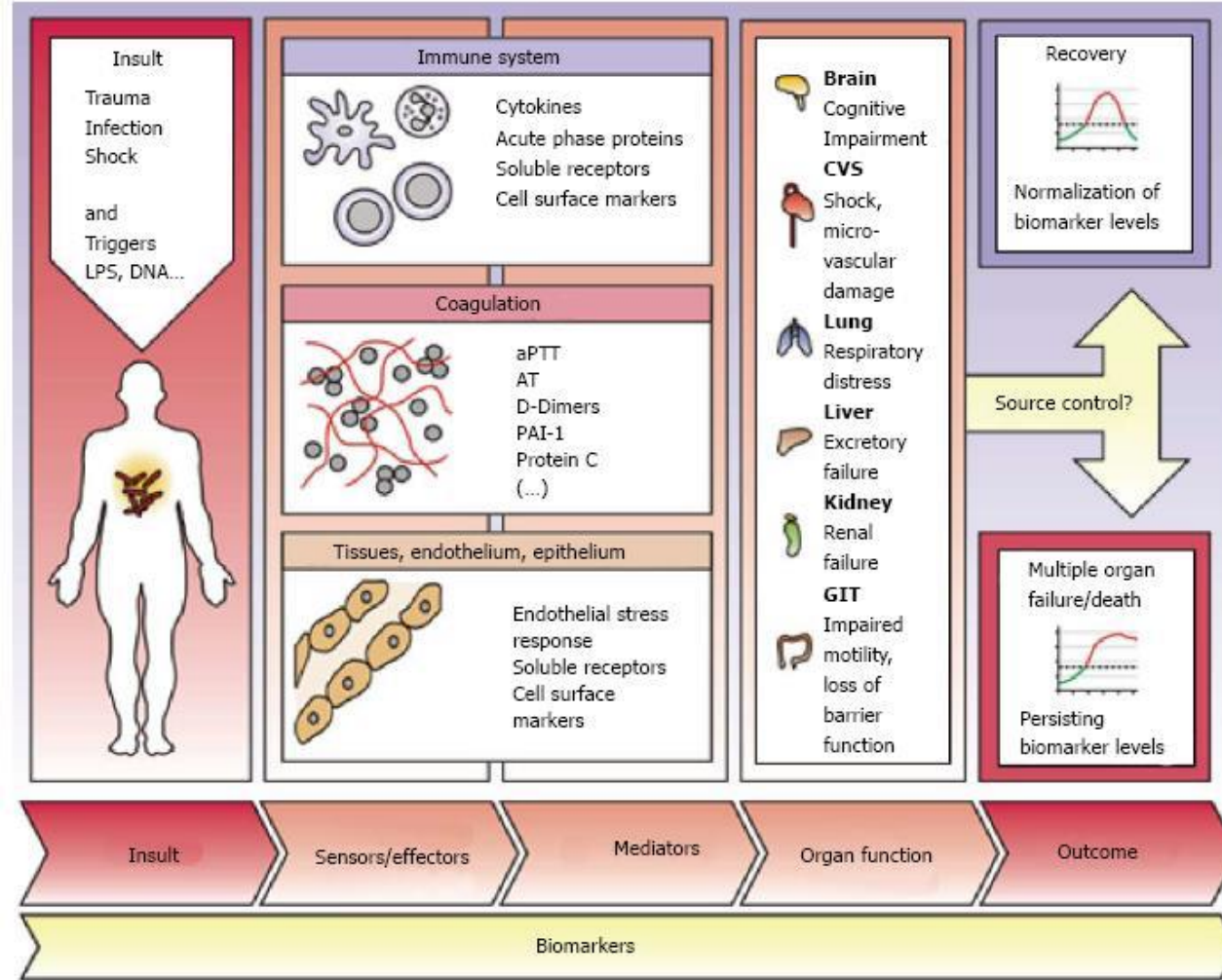


Kumar ve ark. Critical Care Medicine.2006

Laboratuvarı kliniğe zamanında ulaştırmak önemli



Bakteriyemi Tanısında Biyobelirteçler



Biyobelirteç

Lökosit sayısı

Eosinofil sayısı

Fibrinojen

Eritrosit sedimentasyon hızı

C-reaktif protein (CRP)

Prokalsitonin (PCT)

Interleukin-6

sTREM-1

Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (suPAR)

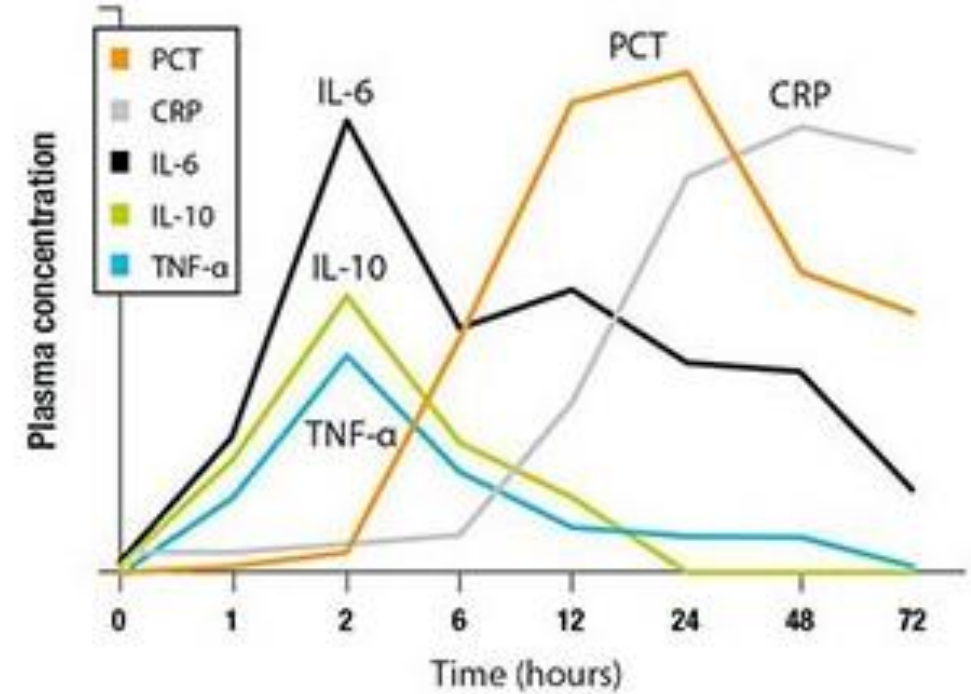
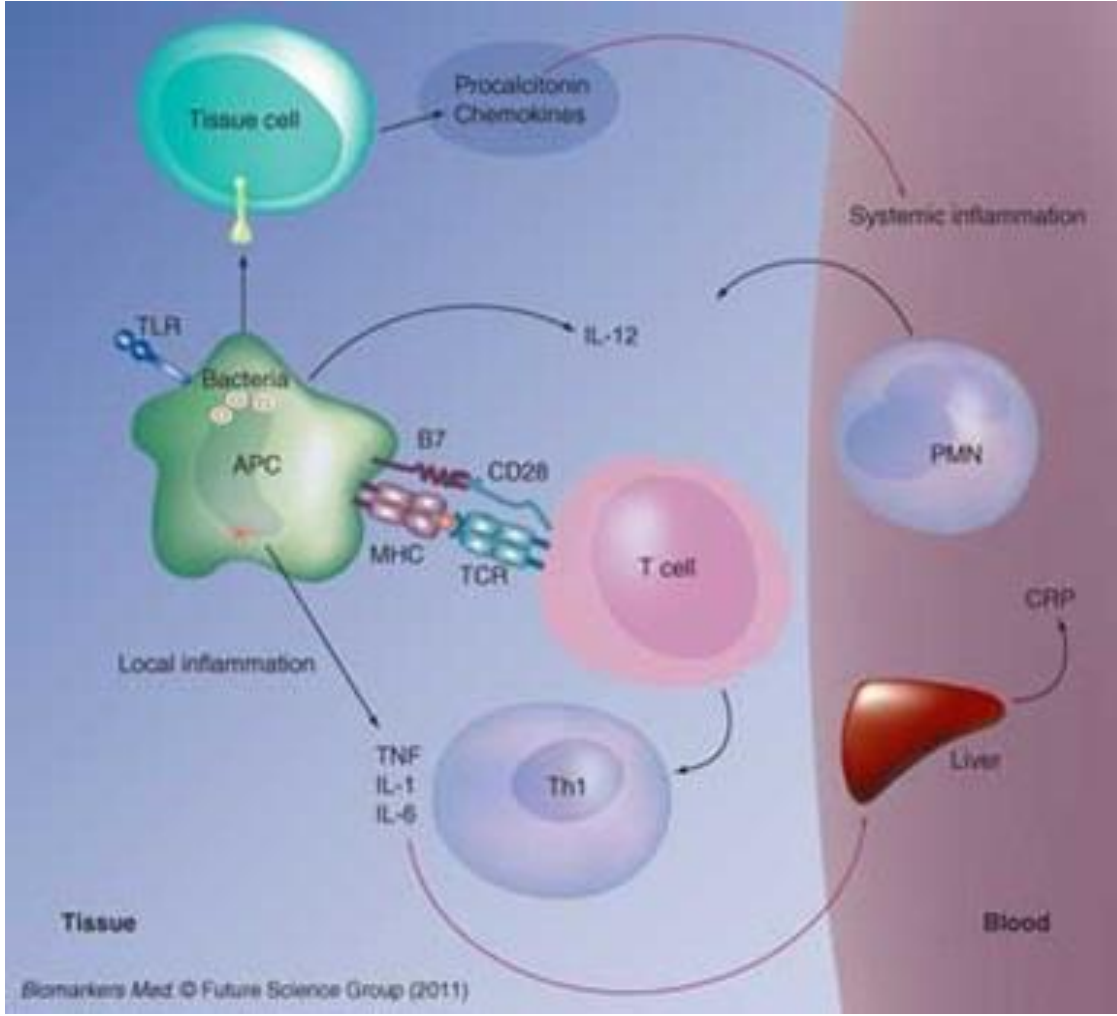
Proadrenomedullin (pro-ADM)

Presepsin

Biyobelirteçler ve klinik uygulamaları

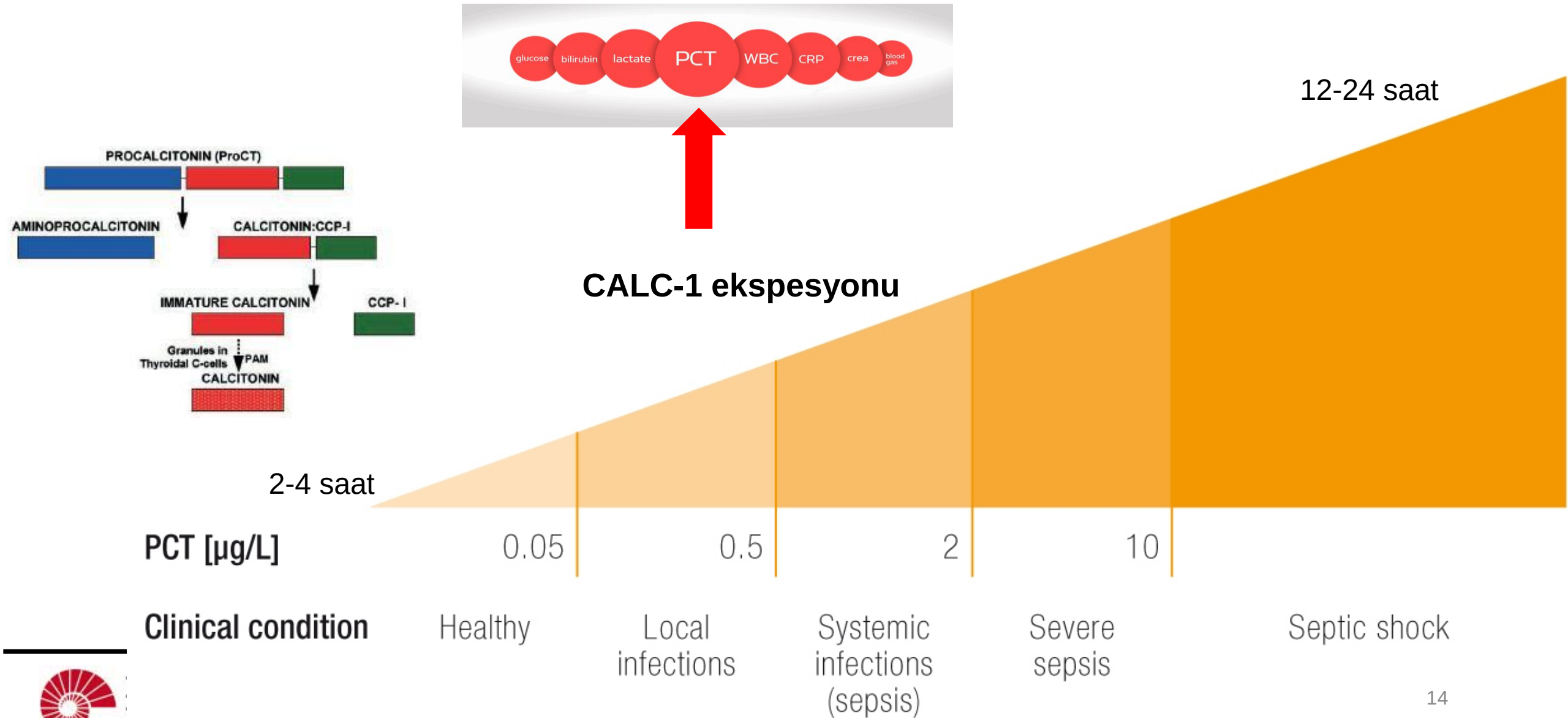
- Hastada enfeksiyon var mı?
- Klinik tablo ne kadar ciddi?
- Hasta tedaviye yanıt veriyor mu?

Biyobelirteç: IL-6



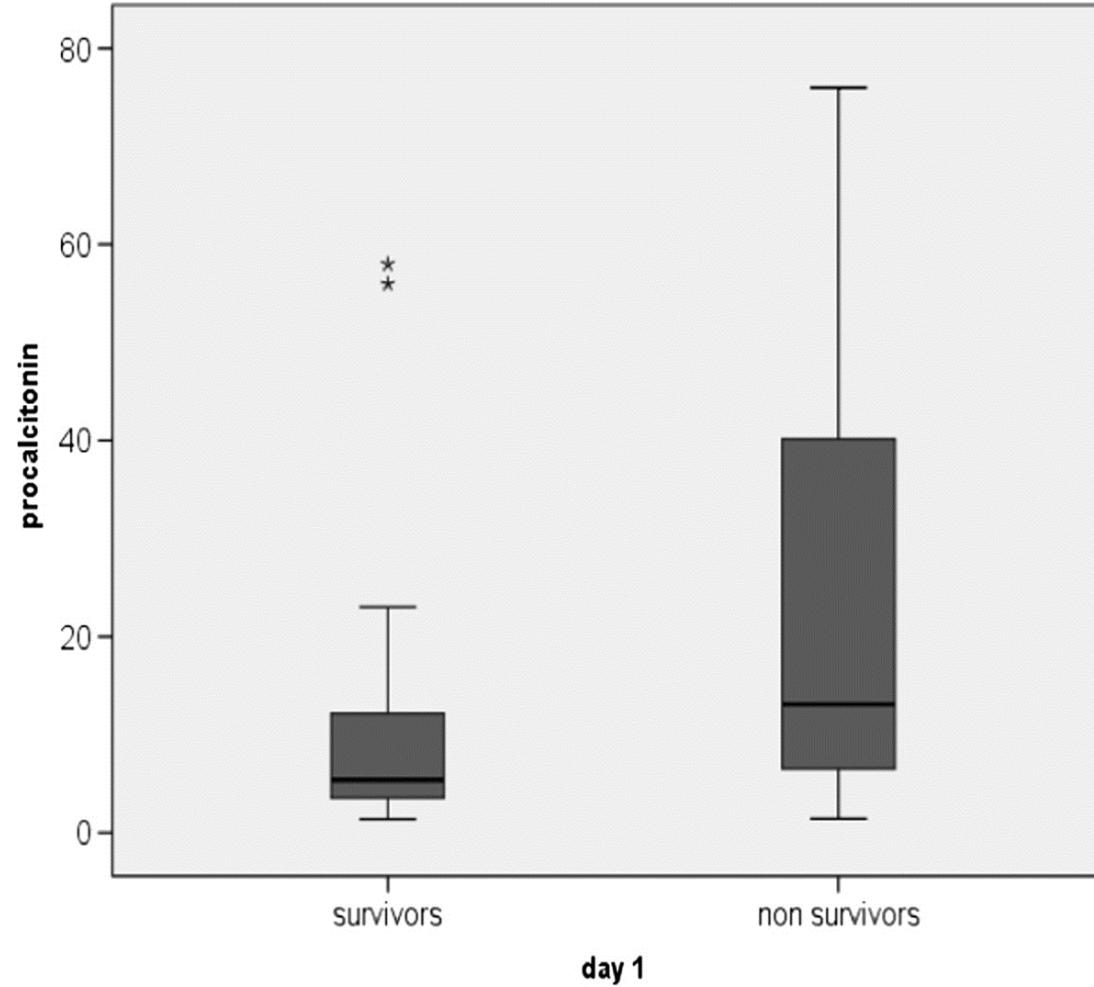
A multicenter study showed that IL-6 can predict survival on the 28th day after sepsis onset [The value of IL-6 to distinguish between SIRS and sepsis is controversially discussed, since high levels can also be detected after trauma, surgery or in patients with autoimmune diseases].

Sepsis Tanısında Prokalsitonin



Sepsisli Hastada Prognozun Değerlendirilmesinde Procalcitonin

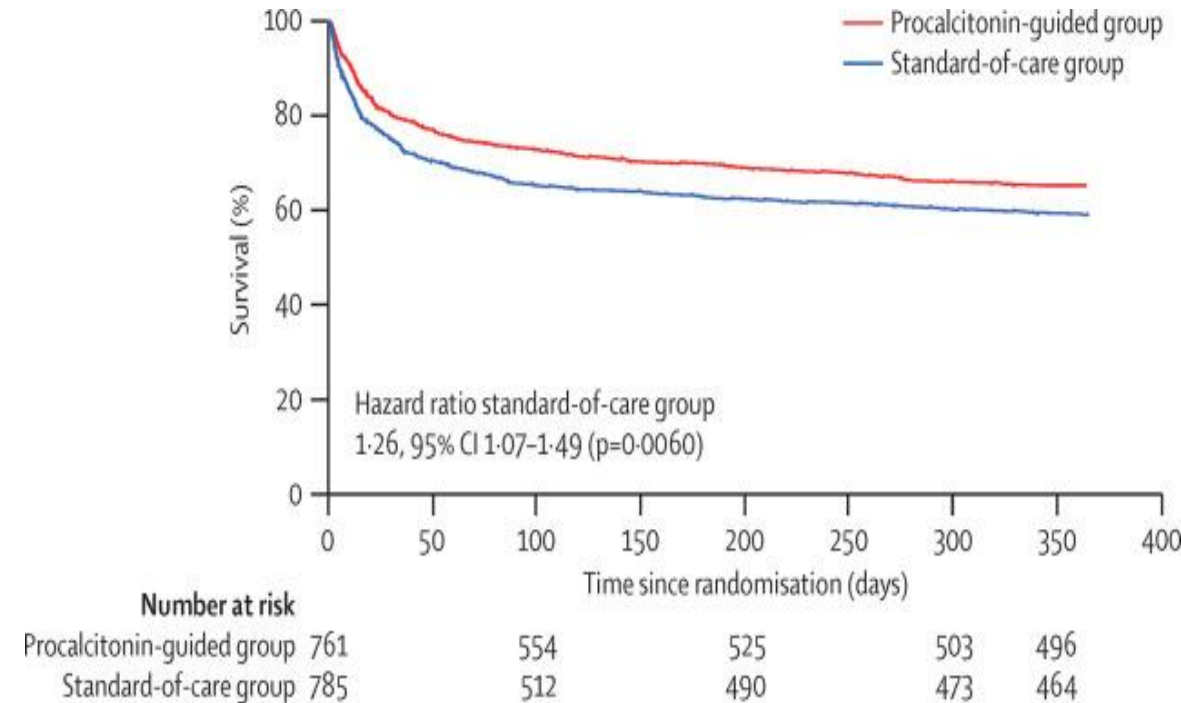
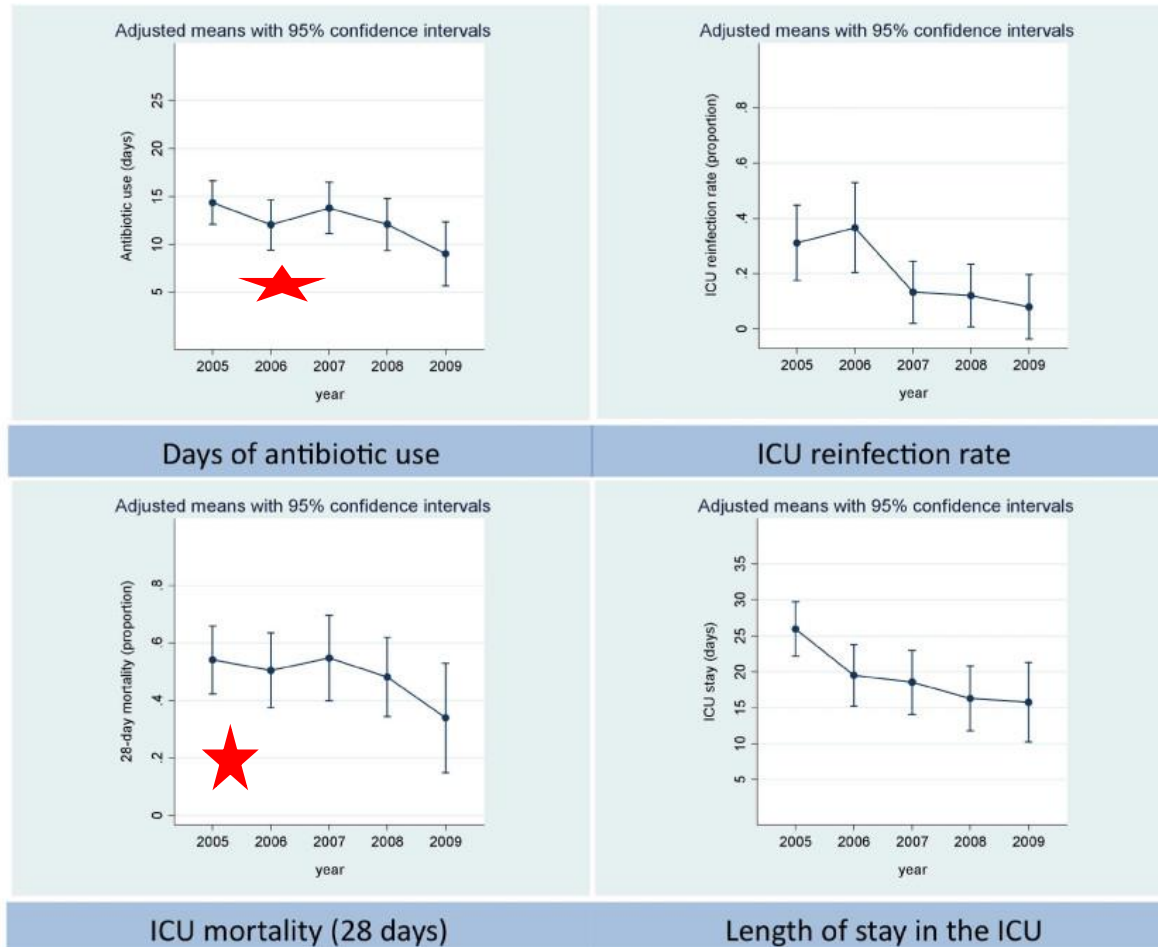
Comparison of procalcitonin between survivors and non survivors on day-1. Data are presented as box plots with median lines, 25- and 75-percentile boxes, and 10- and 90-percentile *error bars*. The stars represent the outliers.



Avrupa ve Asya
340 hasta

Saransh Jain, *BMC Research Notes*. 2014.7:458

Prokalsitonin Destekli Tedavi Antibiyotik Kullanım Süresini ve Mortaliteyi Azaltır



Evelien de Jong. *Lancet Infect Dis.* 2016, 819–827

Andreas Hohn. *BMC Infectious Diseases* 2013;13:158

Hızlı Tanı Testleri



1. Fenotipik Testler

Kromojenik Agar



2. Genomik Testler

Patojen spesifik PCR

PNA-FISH

Panel Based PCR

Panel Based Mikroarray

Kandan direkt tanı testleri

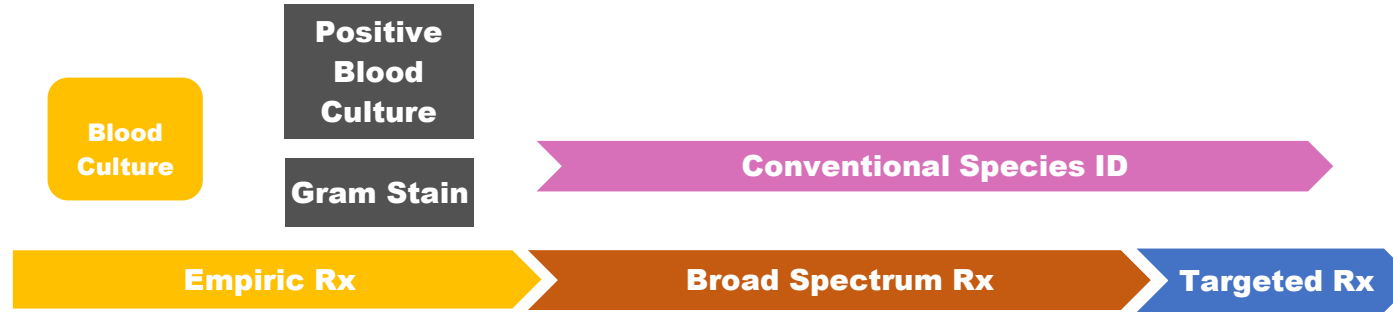


3. Proteomik Testler

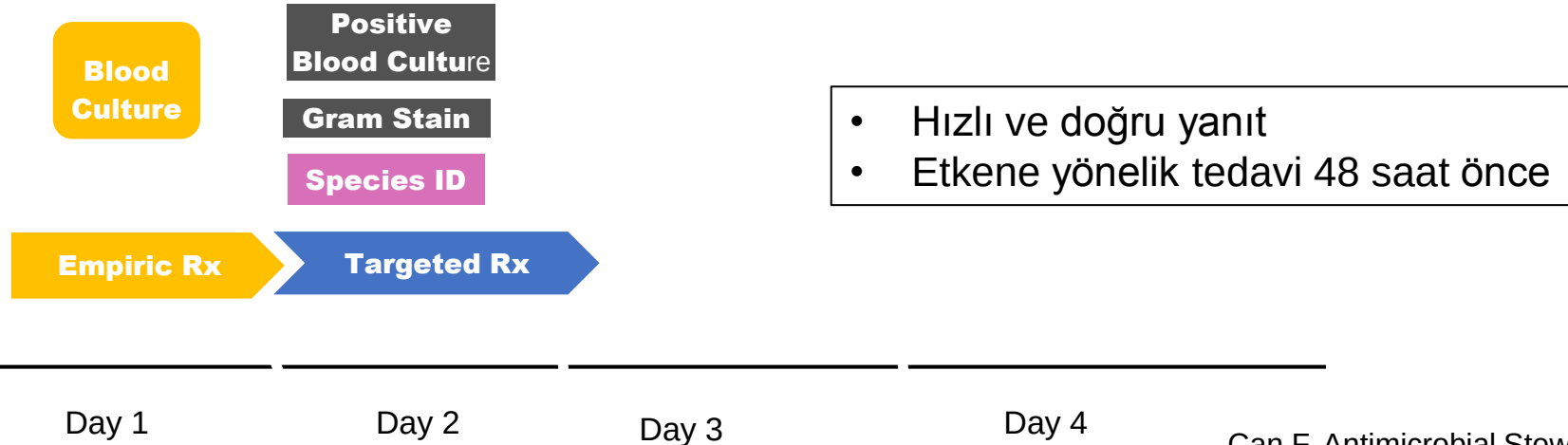
MALDI-TOF

Sepsiste hızlı tanı testleri ne kadar yararlı

Treatment by Conventional Dx



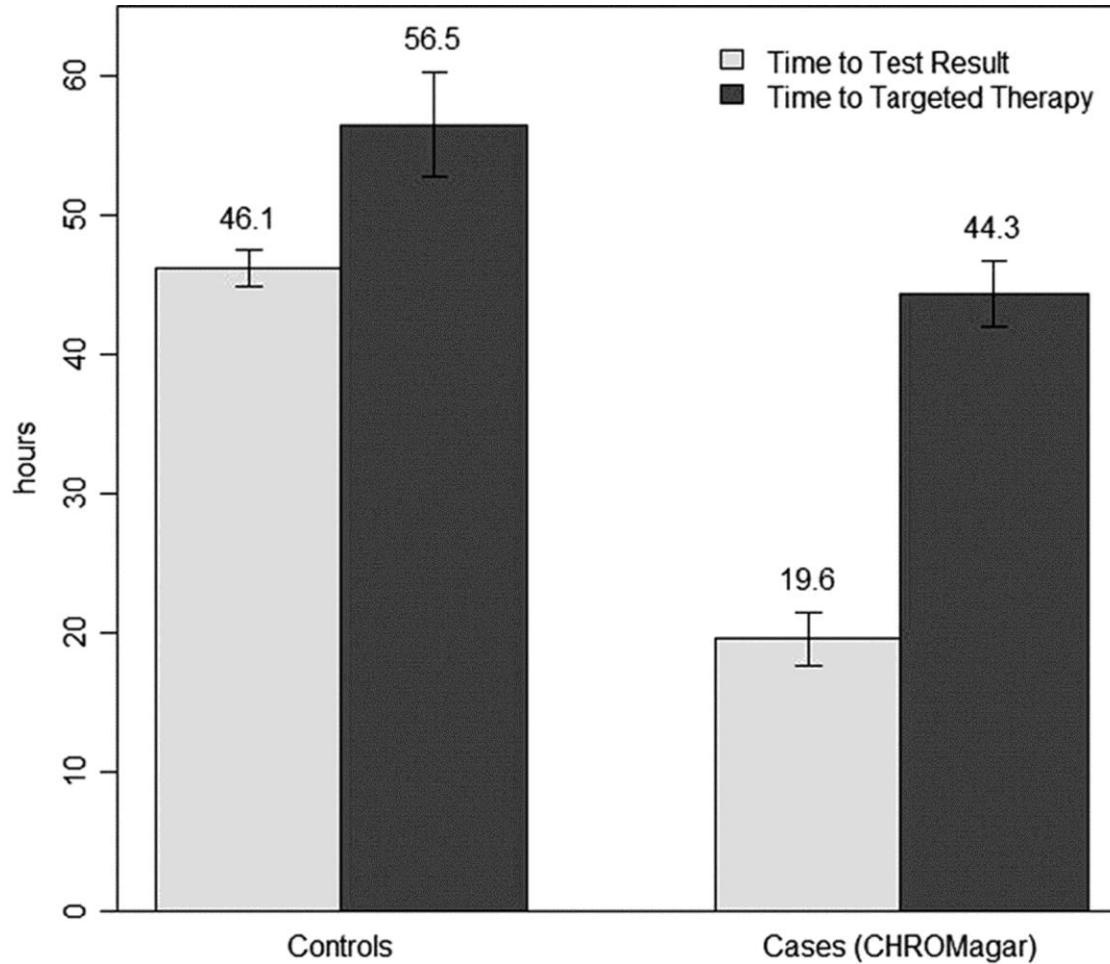
Treatment by RDTs



Can F, Antimicrobial Stewardship, Elsevier 2017

Sepsis Tanısında Fenotipik Testler

CHROMagar



Nicole C. Nicolsen et al. J. Clin. Microbiol. 2013;51:4126-4129

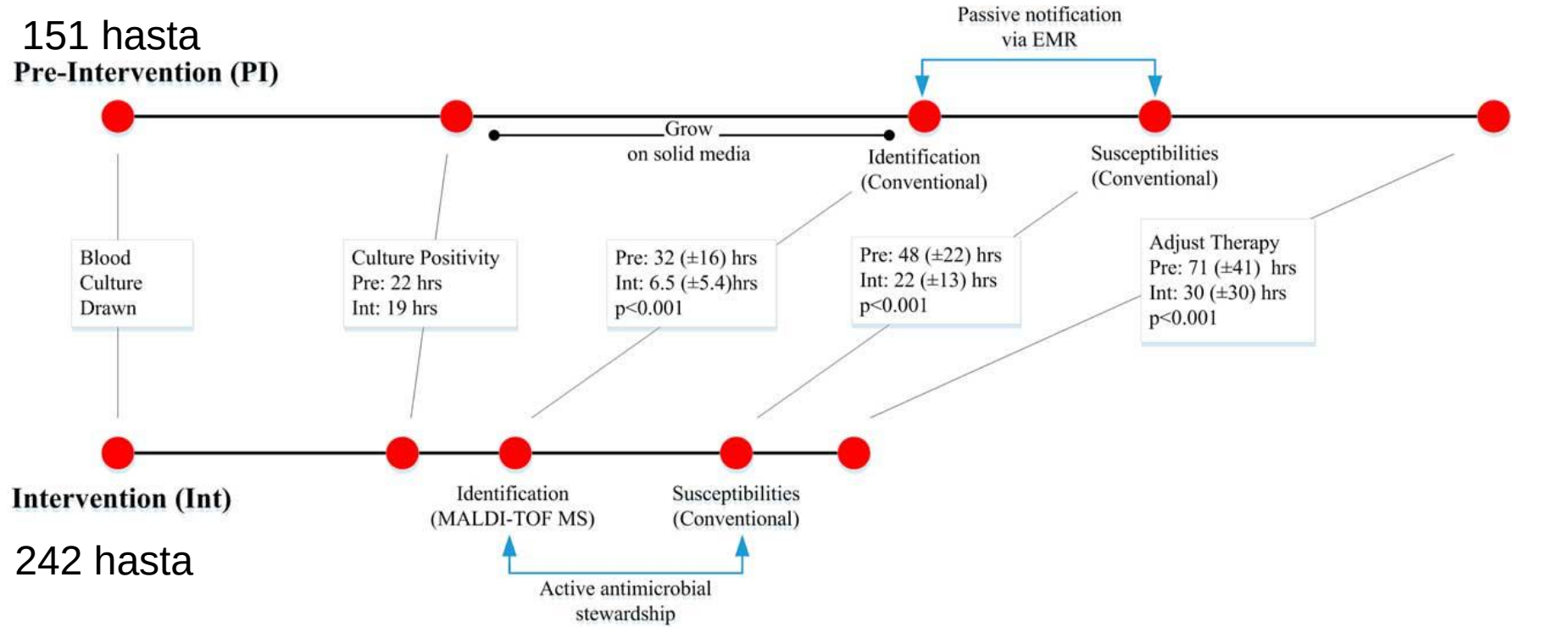
MALDI-TOF

- Matrix laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry
- Bakteri ve bazı mantarların tiplendirilmesi hızlı ve güvenilir
- Pozitif kan kültürlerinden direkt çalışılabilir olması avantaj



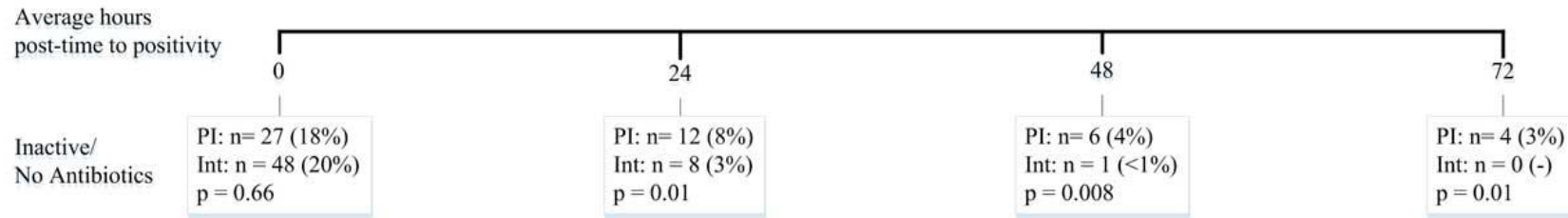
Maldi-TOF ile tanı etken antibiyotik başlama süresini kısaltıyor

151 hasta
Pre-Intervention (PI)



Intervention (Int)

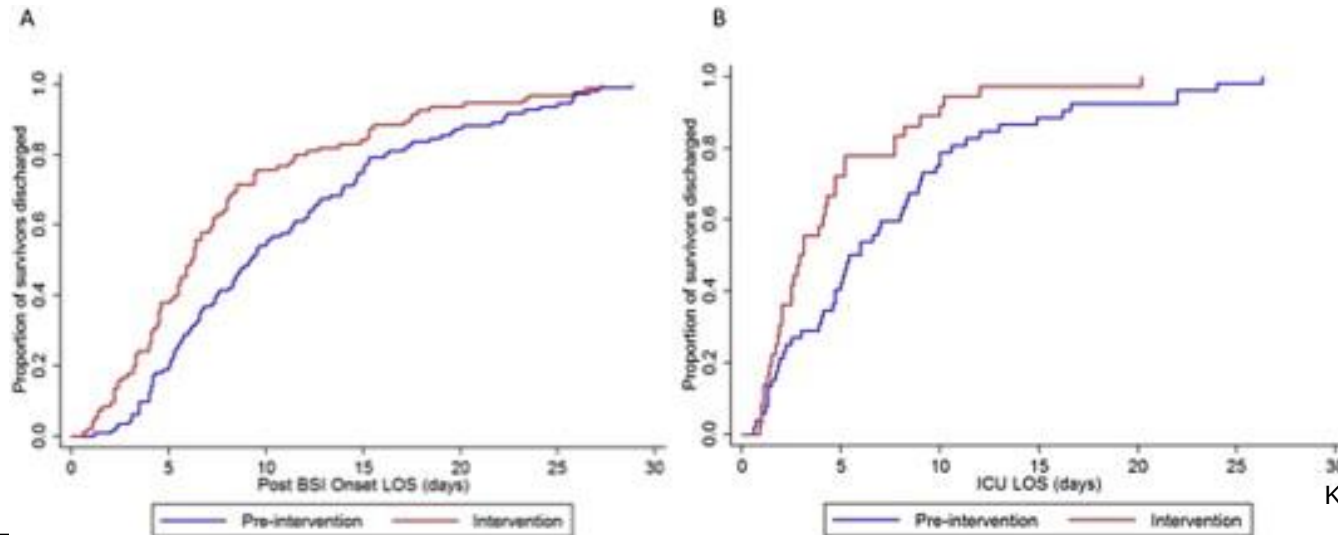
242 hasta



Lockwood AM. Infect Control Hosp Epidemiol. 2016 Apr;37(4):425-32.

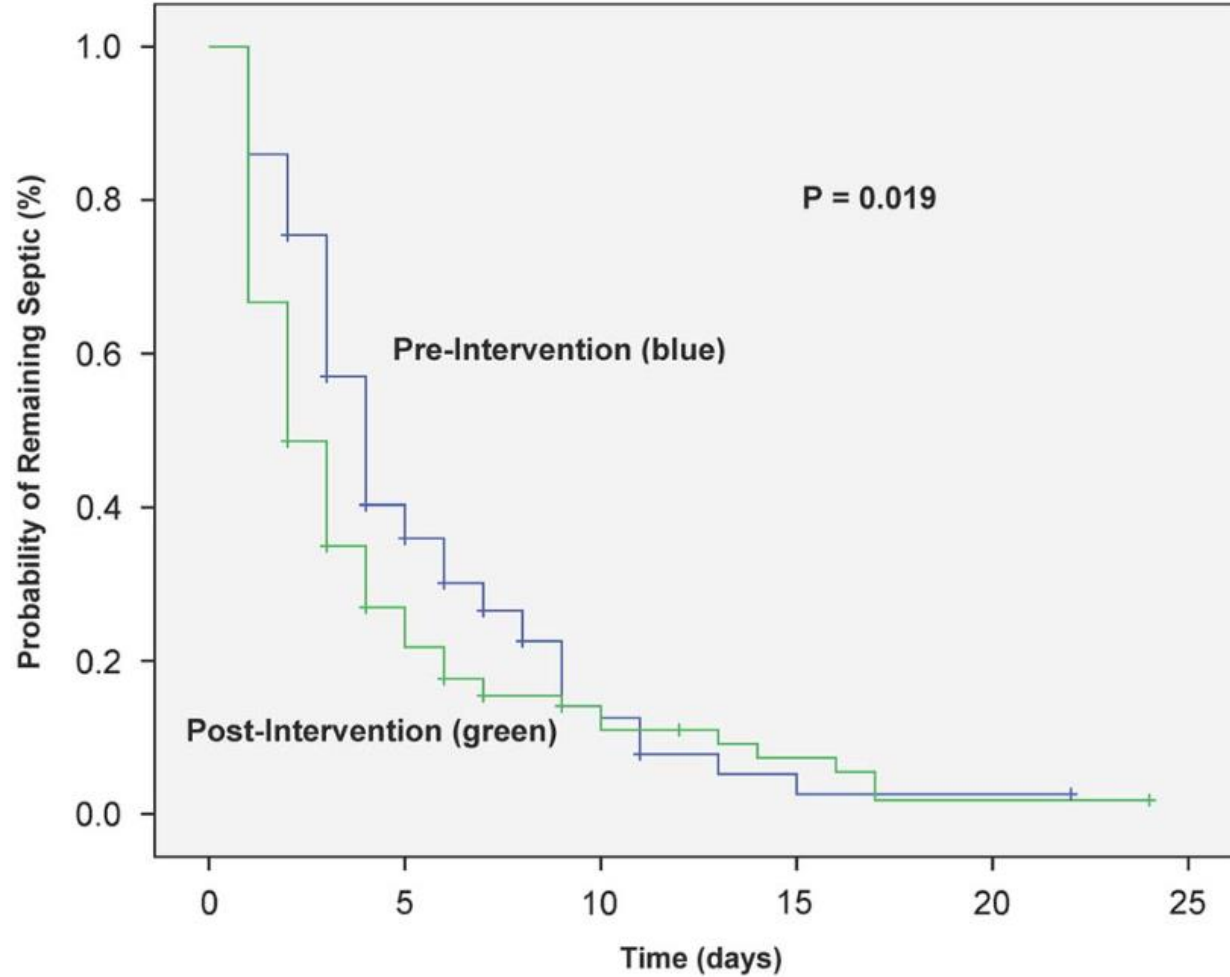
Maldi-TOF ve AMY mortaliteyi azaltıyor

Outcome	Pre-intervention cohort ($n = 157$)	Intervention cohort ($n = 112$)	<i>P</i> value
30-Day all-cause mortality	33 (21)	10 (8.9)	0.01
60-Day all-cause mortality	48 (30.6)	14 (12.5)	0.001
Inpatient mortality	29 (18.5)	9 (8)	0.02



Katherine K. Perez, Journal of Infection, 2014, 216–225

Maldi-TOF ve Antimikrobiyal Yönetim ile Klinik Yanıtta İyileşme



	<u>Konvansiyonel</u>	<u>Maldi TOF</u>
Klinik Yanıt	%80.7	% 90.5
Yanıt Süre	4 gün	2 gün

Joseph J. Carreno ve ark. Infect Control Hosp Epidemiol.2016

Maldi-TOF ve Antimikrobiyal yönetim uygulamalarının Etkinliği

MAJOR ARTICLE

Clinical and Treatment-Related Outcomes

Outcome	Total		PValue
	Preintervention (n = 256)	Intervention (n = 245)	
Clinical outcomes			
30-day all-cause mortality	52 (20.3)	31 (12.7)	.021
Time to microbiological clearance, d	3.3 ± 4.8	3.3 ± 5.7	.928
Length of hospitalization,	14.2 ± 20.6	11.4 ± 12.9	.066
Length of ICU stay,	14.9 ± 24.2	8.3 ± 9.0	.014
Recurrence of same BSI	15 (5.9)	5 (2.0)	.038
30-day readmission with same BSI	9 (3.5)	4 (1.6)	.262
Treatment-related outcomes			
Time to effective therapy,	30.1 ± 67.7	20.4 ± 20.7	.021
Time to optimal therapy, h	90.3 ± 75.4	47.3 ± 121.5	<.001

Impact of Rapid Organism Identification via Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Combined With Antimicrobial Stewardship Team Intervention in Adult Patients With Bacteremia and Candidemia

Angela M. Huang,^{1,2} Duane Newton,^{5,6} Anjly Kunapuli,^{1,2} Tejal N. Gandhi,³ Laraine L. Washer,^{3,4} Jacqueline Isip,^{1,2} Curtis D. Collins,^{1,2} and Jerod L. Nagel^{1,2}

Departments of ¹Pharmacy Services and ²Clinical Sciences, University of Michigan Health System and College of Pharmacy, ³Division of Infectious Diseases, Department of Internal Medicine, ⁴Department of Infection Control and Epidemiology, ⁵Clinical Microbiology Laboratories, and ⁶Department of Pathology, University of Michigan Health System and Medical School, Ann Arbor

Angela M. Huang. Clin Infect Dis (2013) 57 (9): 1237-1245.

Antimikrobiyal yönetimde MALDI-TOF: Gerekli mi???

480 kan kültürü alınan hasta (önce 247& sonra 233)

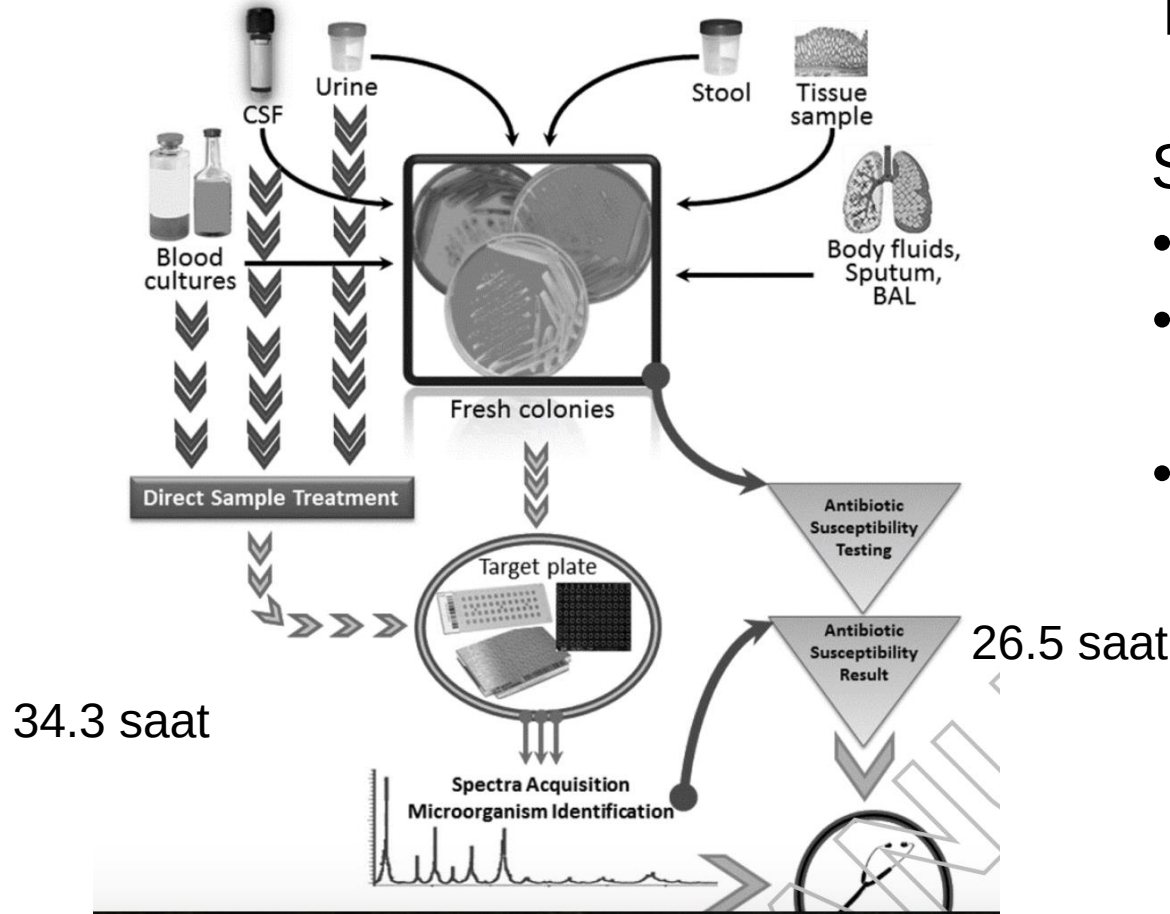
Clinical Outcomes of Pre-intervention Compared to Intervention Groups

	Pre- intervention (n=247)	Intervention (n=233)	Relative Risk Reduction	P-value
30 Day Mortality	52 (21%)	28 (12%)	43%	p<0.01
Hospital LOS* (days)	14.2 ± 16.7	13.0 ± 16.5		p=0.44

- Her enfeksiyon için 2,439 \$
- Yıllık 2.34 million \$

Patel TS ve ark., JCM,2016
TeKippe E, JCM, 2017

Maldi-TOF ile Kan kültüründen patojenin direkt tanımlanması



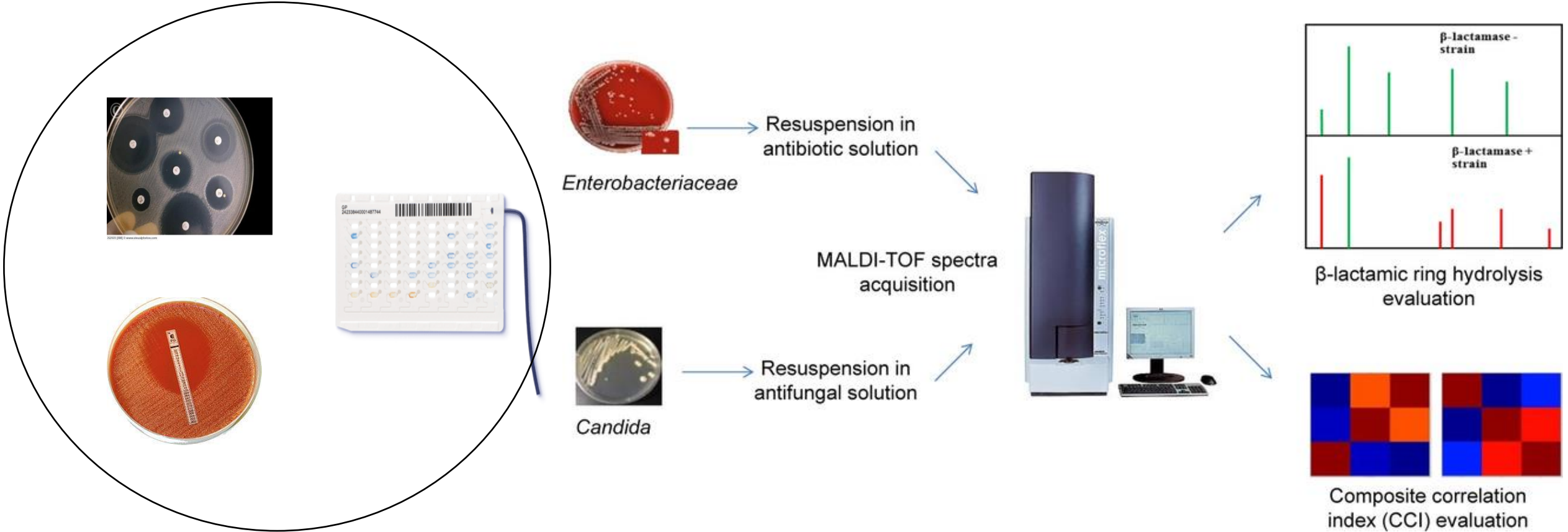
Tanı süresinin kısaltılmasında önemli adım

Sorun:

- Duyarlılık düşük
- (Charcoal ve besiyerindeki diğer maddelerin inhibe edici etkisi)
- Polimikrobiyal kültürler

[Philippe R. S. Lagacé-Wie](#), J Clin Microbiol, 2013

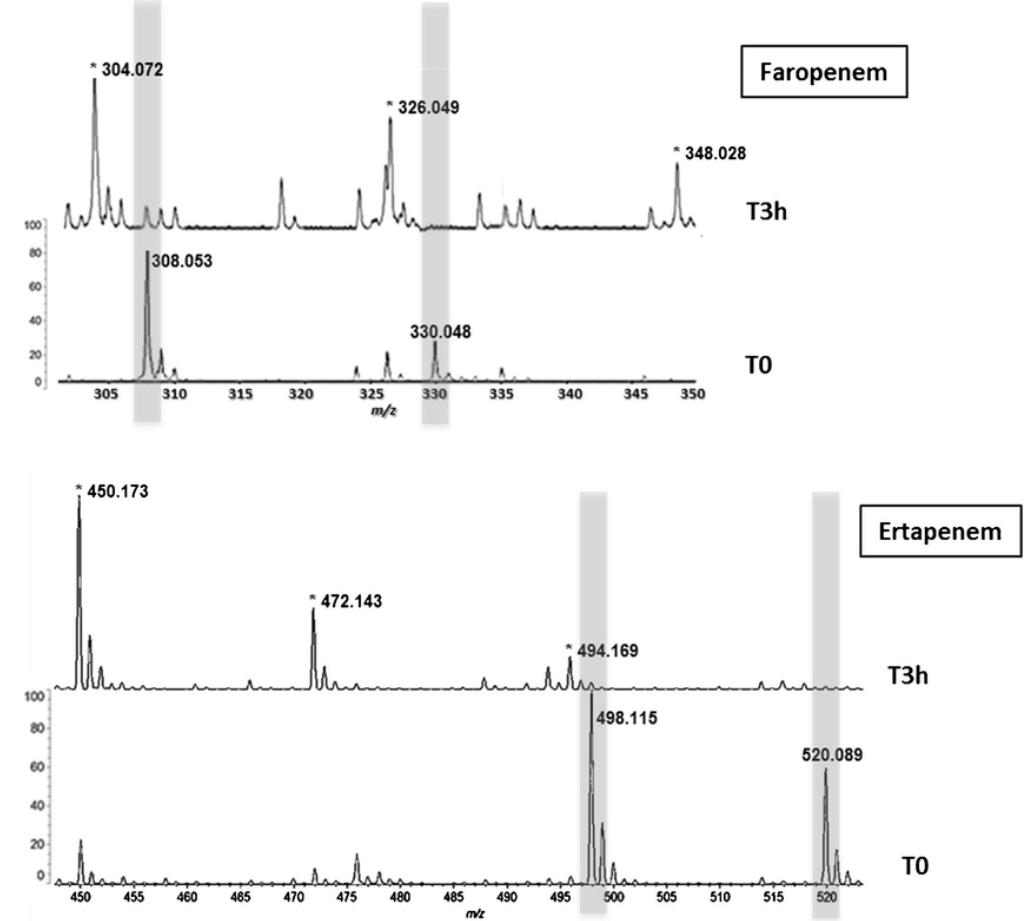
Antibiyotik Duyarlılık Testlerinde Maldi-TOF



Konvansiyonel ADT

Hangi Direnç Mekanizmaları

- Enterobacteriaceae beta-laktam antibiyotik
- Acinetobacter baumannii karbapenem
- Klebsiella OmpK36 kaybı
- Bacterioides fragilis
- MSRA, VISA
- VRE



Sorun: Pikler farklı nedenlerle oluşabilir

Mirande C, Eur J Clin Microbiol, 2015

Maldi-TOF Epidemiyolojik Suş Tiplendirme

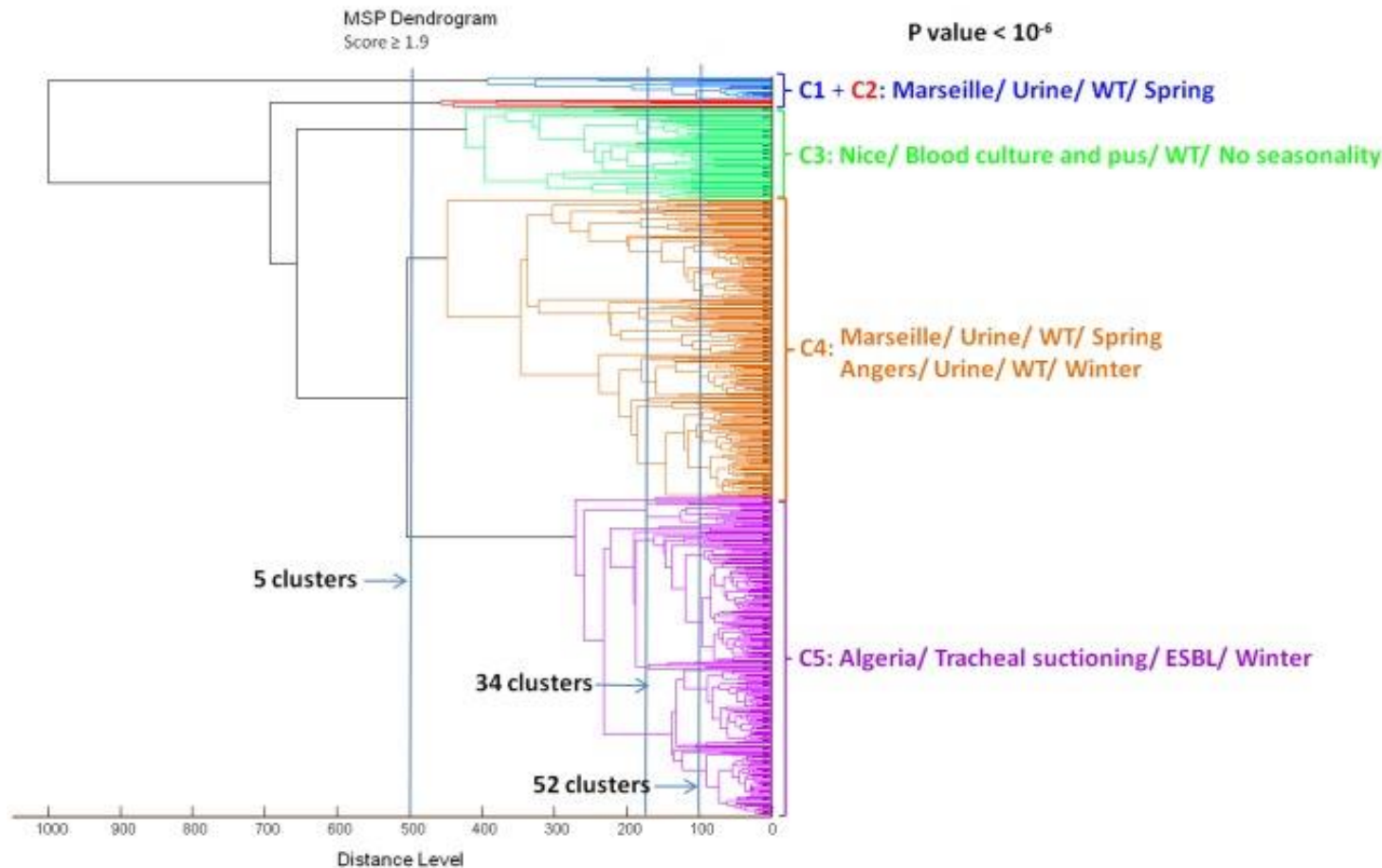
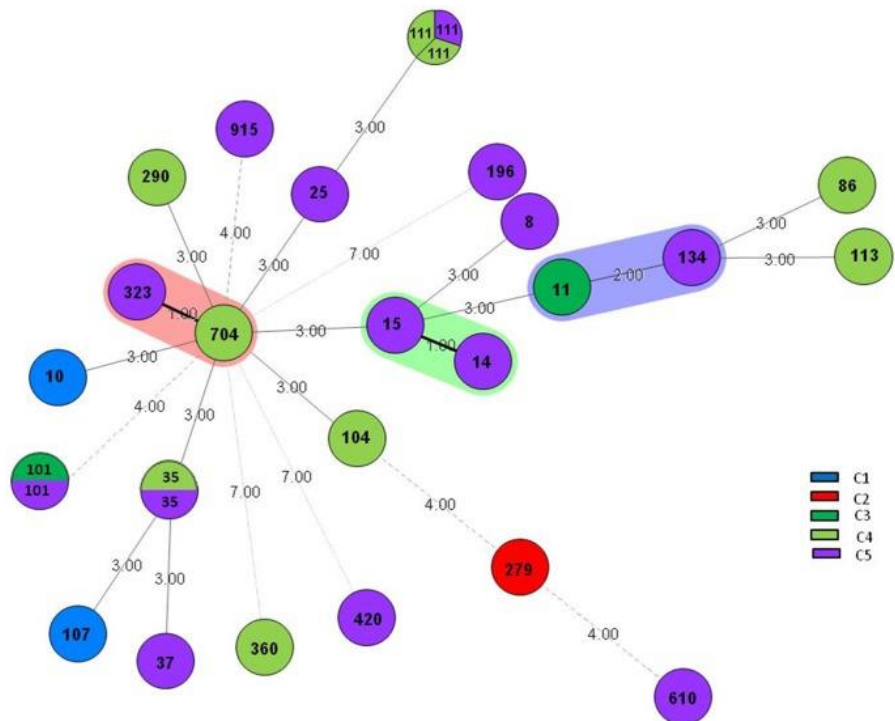
OPEN ACCESS Freely available online

PLOS ONE

Biotyping of Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates from France and Algeria Using MALDI-TOF MS

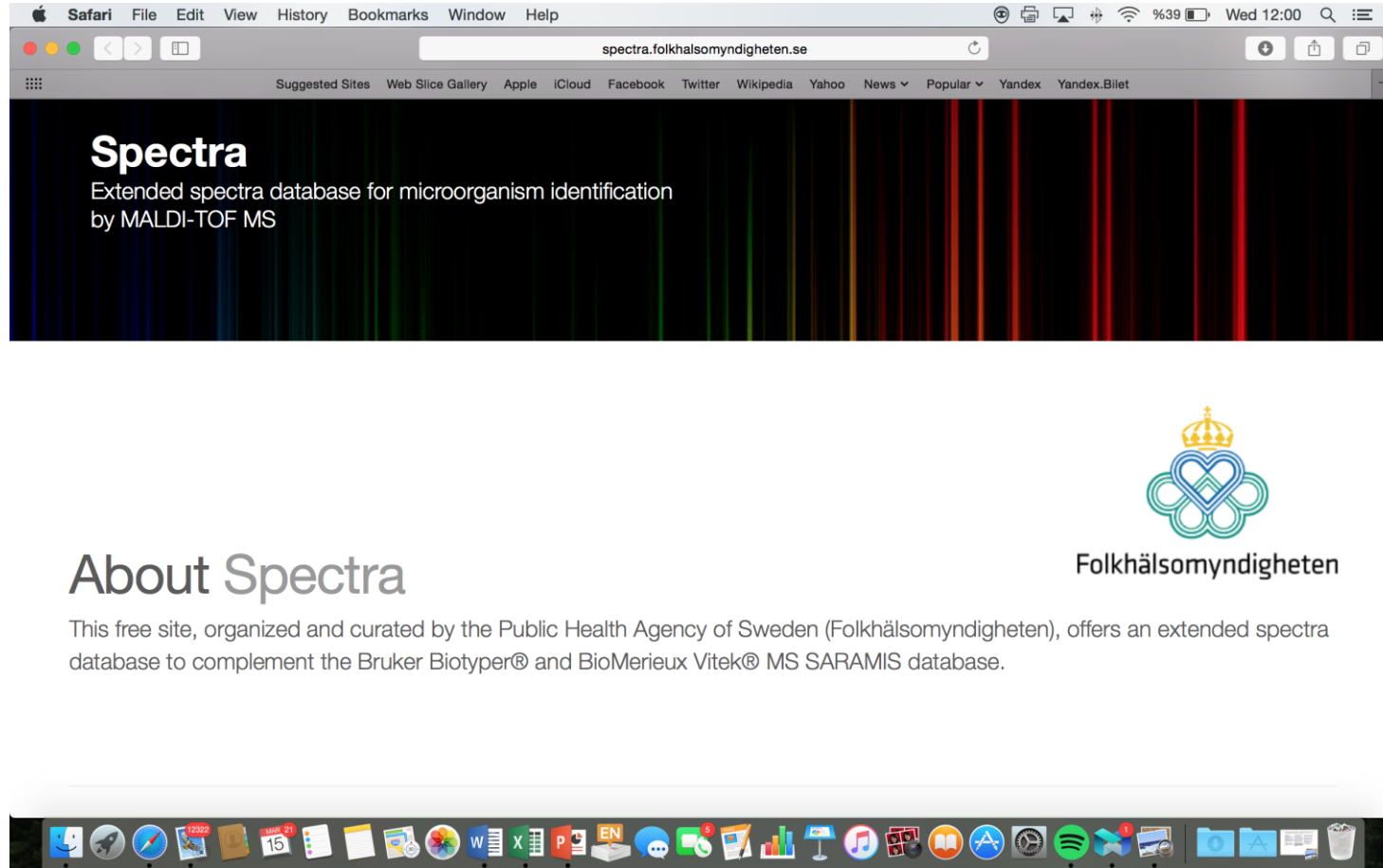
Meryem Berrazeg^{1,2}, Seydina M. Diene¹, Mourad Drissi², Marie Kempf^{1,3}, Hervé Richet¹, Luce Landraud³, Jean-Marc Rolain^{1*}

¹ Aix-Marseille Université, Unité de Recherche en Maladies Infectieuses et Tropicales Emergentes (URMITE), UM63, CNRS 7278, IRD 198, Inserm 1095, IHU Méditerranée Infection, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Marseille, France, ² Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques: Physico-Chimie, Synthèse et Activité Biologiques, Faculté des Sciences de la Nature, de la Vie, de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie, ³ Laboratoire de Bactériologie, Institut de Biologie en santé – PBH, CHU, Angers, France, ⁴ Laboratoire de Bactériologie – Hôpital l'Archet 2, CHU de Nice, Nice, France



Berrazeg M, PLoS One. 2013

MALDI-TOF Protein DATABASE

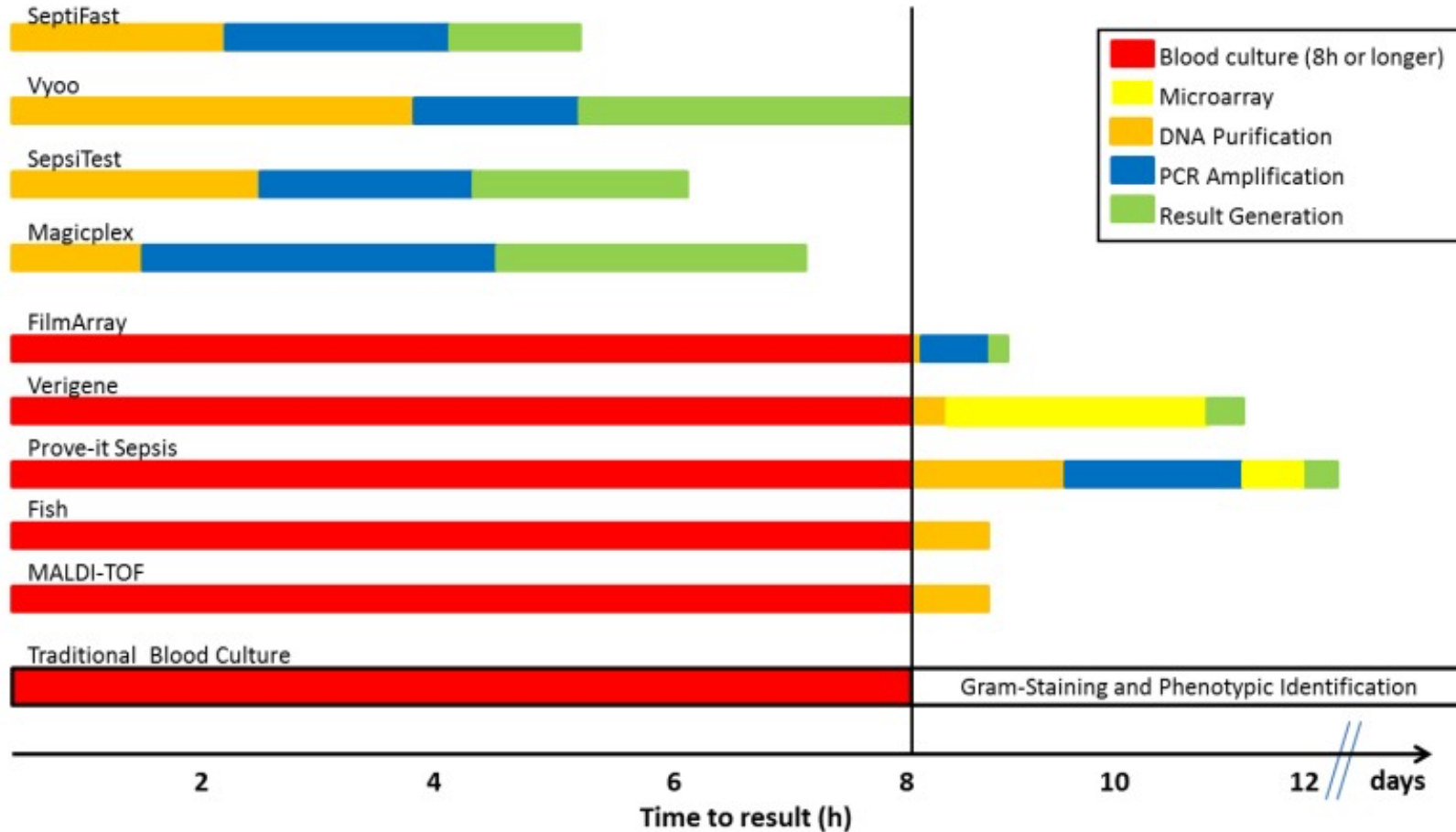


Uluslararası ve lokal veritabanları oluşturulması ilaç dizaynı, tanı, ve epidemiyolojik çalışmaları için önemli

MALDI-TOF ile tanışma şansı bulduğum bakteriler

- *Kocuria rhizophila*
- *Arthrobacter cumminsii*
- *Veillonella atypica*
- *Porphyromonas somerae*
- *Corynebacterium confusium*
- *Helicobacter kunzii*
- *Weeksella virosa*

Bakteriyemi Hızlı Tanısında Moleküler Testler



Liesenfeld, O. *Eur J Microbiol Immunol.* 2014;4:1–25.

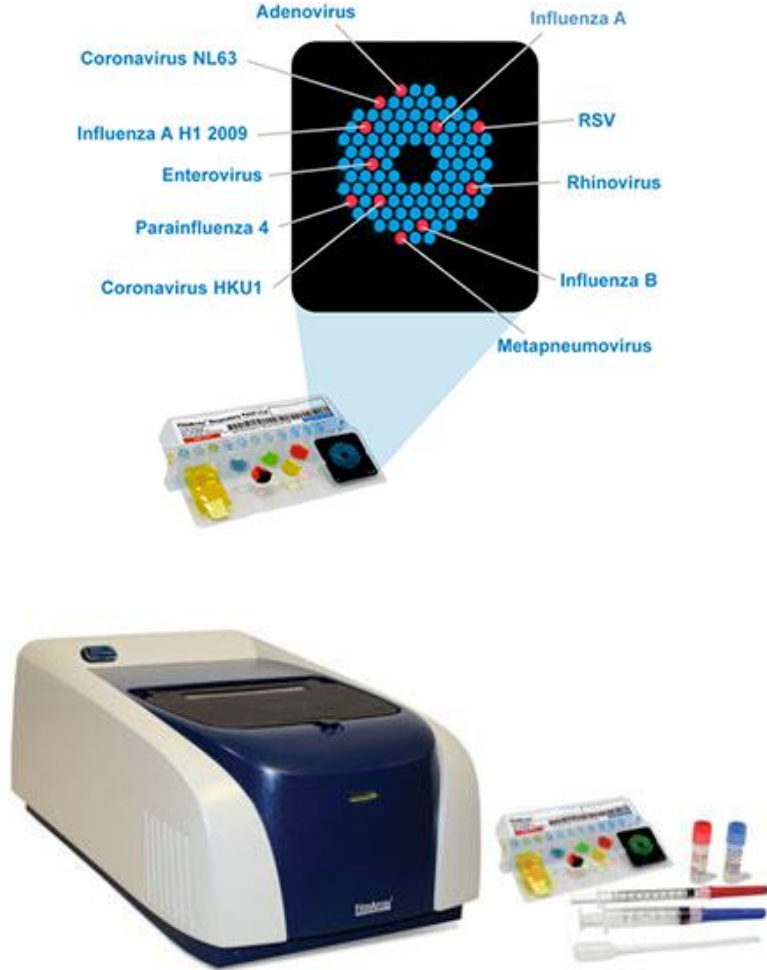
Sepsisli Hastalarda Kandan Direkt Patojeni Gösteren Platformlar

Assay	Technology	Volume Input (mL)	Number of Pathogens Detected (Library)	Limit of Detection (CFU)	Turnaround Time (h)
SeptiFast	Real-time PCR	1.5	19 bac/6 f	3–30	6
Iridica	PCR + electrospray ionization MS	5	>750 bac >200 f >130 v		6
SepsiTest	16S rDNA PCR + sequencing	1–5	>300	2–460	8
Looxster/ Vyoo	PCR + electrophoresis/ microarray	5	34 b 7f	5–100	7
Magicplex	Nested real-time PCR	1	90		6
T2Candida T2Bacteria	PCR + NMR	2	5f ?	1–3	3
Polaris/Idylla	Real-time PCR	5–10	10 b 6f	5–10	2



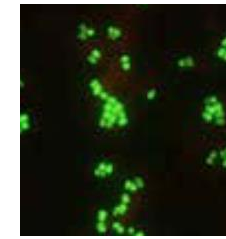
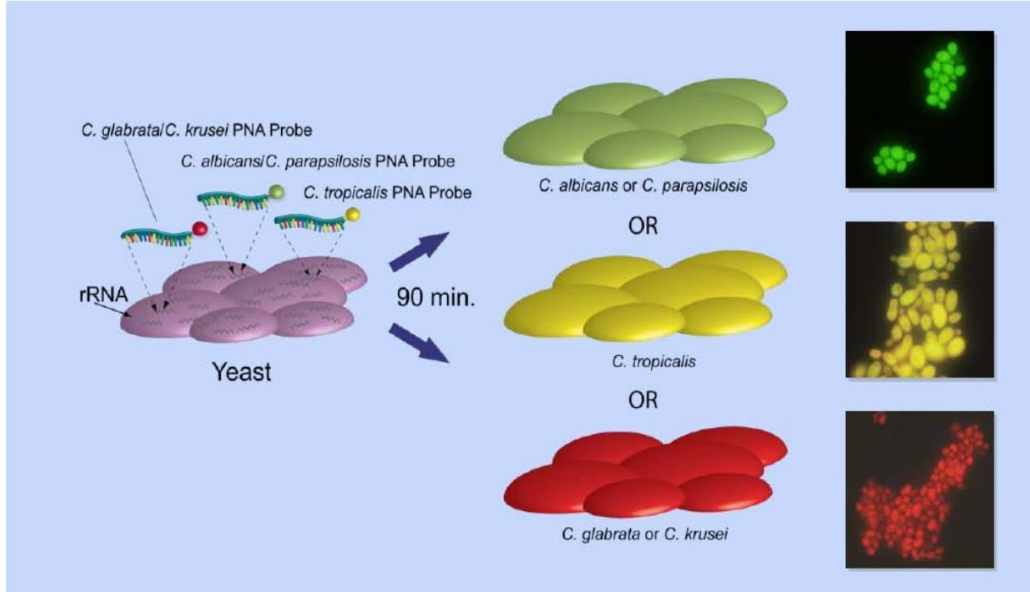
PCR, polymerase chain reaction; MS, mass spectrometry; bac, bacteria; f, fungi; v, virus; CFU, colony forming

Multiplex PCR

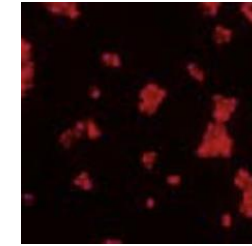


- *Bakteri, kandida ve virüsler*
- *CTX-M, VIM, IMP, OXA, KPC, NDM, VanA, and mecA direnç genleri*
- Etken spesifik tedavi süresini azalır
(24 saat)
De-escelation süresi 21 saat & 34 saat
Hastanede kalış süresi 21.7 gün

Peptide Nucleic Acid Fluorescence In Situ Hybridization



S.aureus



KNS



Negatif

Enterokok, S.aureus, Candida bakteriyemi tanısı 3.8 gün erken
Maliyet 415 USD azalmış

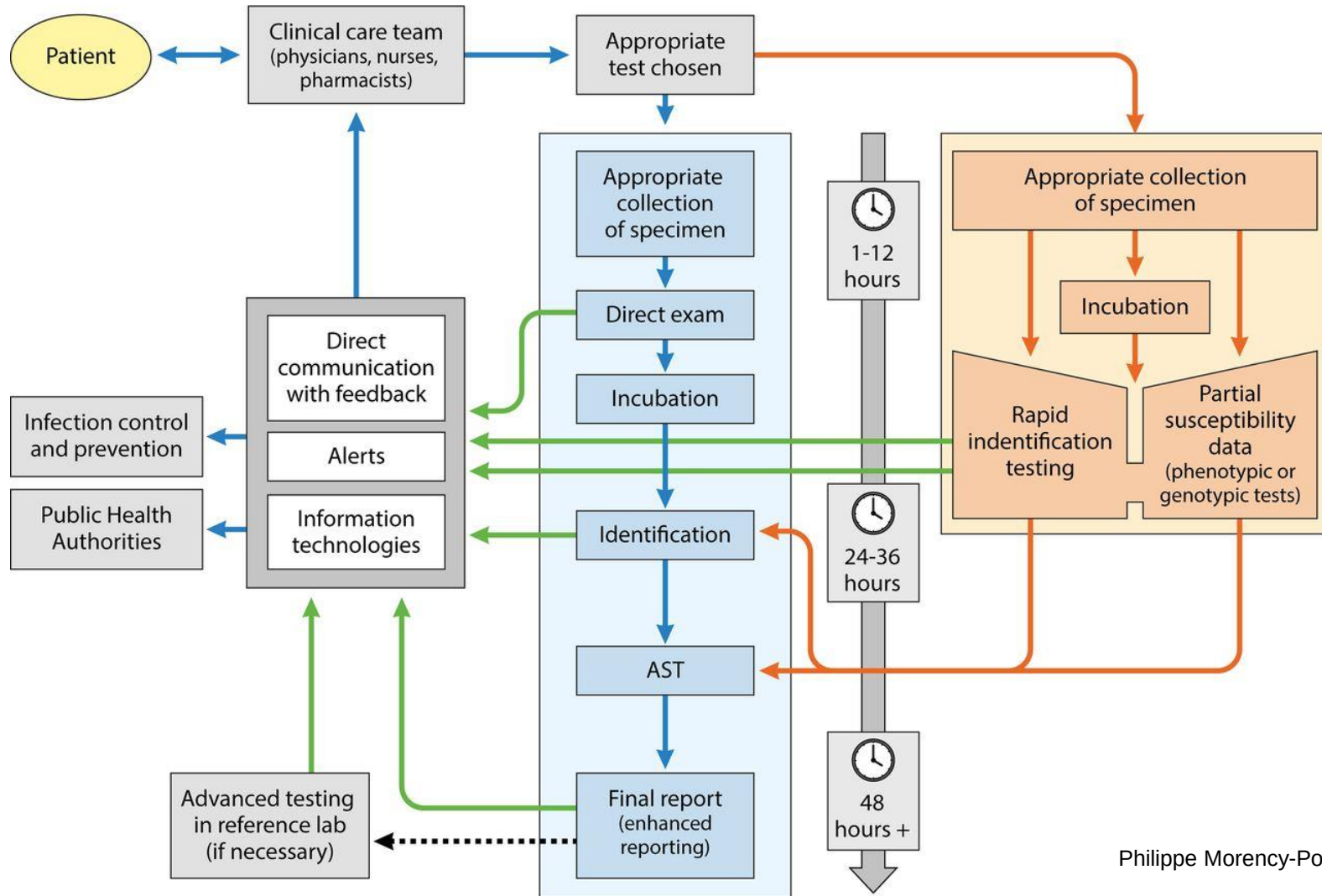
AMY ile birlikte yapılmazsa etkisiz

Holtzman C et al. JCM 2011

Genotipik testler mükemmel mi??

- **Genotiplendirme testlerinde-genlerin varlığı/yokluğu araştırılır, duyarlılık değil**
 - Genlerin pozitif veya negatif olması her zaman direnç veya duyarlılığı göstermez
 - Genotipik testler direnç ile ilişkili bazı genleri göstermez, bakterinin duyarlılık profilini yansıtmaz
 - “Duyarlı” ne kadar duyarlı???

Kan kültürlerinin Laboratuvardan Kliniğe Ulaştırılmasının Organizasyonu Başarı İçin Önemlidir



Philippe Morency-Potvin ve ark. Clin. Microbiol. Rev. 2017;30:381-407

Başarının anahtarı: İletişim

- En iyi teknolojiye sahip tanı testleri tek başına AMY uygulamasında yararlı değil
- Test sonuçlarının en uygun şekilde ve zamanında iletilmesi gereklidir
- Tek başına mikrobiyolog veya klinisyenin çabaları yetersiz
- İletişim ağı kurulması AMY başarısını artıracaktır

Pogue JM ve ark, CMI,2015,302-312

Beklentiler....

- Patogenezin gösterilmesi
- Duyarlılığı yüksek ve ucuz biyobelirteçlerin kullanılması
- Hızlı tanı testlerinin duyarlılığı ve maliyetlerinde iyileştirmeler
- Ulusal ve uluslararası veritabanlarının kurulması